

(10) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-146273

(43) 公開日 平成5年(1993)6月15日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 23 L 1/30	Z			
1/307				
2/00	G 9162-4B			
A 61 K 31/70		8314-4C		
31/715	ACK	8314-4C		

審査請求 未請求 請求項の数4(全8頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平3-336228	(71) 出願人	000241544 株式会社ホーネンコーポレーション 東京都千代田区大手町1丁目2番3号
(22) 出願日	平成3年(1991)11月26日	(72) 発明者	橋本 博之 神奈川県横浜市戸塚区影取町9-304

(72) 発明者 後藤 勝  
神奈川県横浜市戸塚区影取町9-104  
(72) 発明者 片山 千栄  
神奈川県横浜市戸塚区善行7-8-18-311  
(74) 代理人 弁理士 尊 經夫 (外2名)

(54) 【発明の名称】 新規飲食品素材

(57) 【要約】

【目的】 強いビフィズス菌増殖促進活性を有する新しい飲食品素材を提供する。

【構成】 ガラクトースを含む物質を原料として $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応によって合成される、次の性質: 1) 腸内細菌であるビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum*) による資化試験の結果、終濃度0.5%の当該オリゴ糖組成物を含むPep1 on-Yeast-Fildes solution (PYF) 培地のpHが5.5以下となる資化性強度を示す; 2) 80% (W/W) の水溶液を25°C 24時間以上放置しても結晶の析出が見られない; を有する $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有する飲食品素材。

【効果】 低う蝕性、抗う蝕性でかつビフィズス菌の増殖因子として有効であることから健康増進等の目的の飲食品に使用できる。

1

2

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ガラクトースまたはガラクトースを含む物質を原料に  $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応によって合成される、以下の性質をもつ  $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有する新規な飲食品素材。

1) 腸内細菌であるビフィドバクテリウム ピフィダム (*Bifidobacterium bifidum*) による資化試験の結果、終濃度 0.5% の当該オリゴ糖組成物を含むPepton-Yeast-Fildes solution (PYF) 培地のpHが 5.5以下となる資化性強度を示す。

2) 80% (W/W) の水溶液を25°C 24時間以上放置しても結晶の析出が見られない。

【請求項2】 ガラクトースを含む物質が、乳糖加水分解物あるいはガラクトースとグルコースの混合物である請求項第1項記載の新規な飲食品素材。

【請求項3】 反応条件がガラクトース濃度5% (W/V) 以上、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ濃度5U/g-ガラクトース以上の条件で  $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応によって合成される請求項第1項に記載の  $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有する新規な飲食品素材。

【請求項4】 請求項第1項ないし第3項のいずれか1項に記載の  $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を 5重量%以上含有する新規な飲食品素材。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有する食品および飲料の素材に關し、特に低う歛性、抗う歛性かつ強いビフィズス菌増殖促進効果を有する新規な飲食品素材を提供するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 代表的な甘味料であるシュークロース (蔗糖) は良質の甘味を有する優れた甘味料であるが、近年、虫歯や肥満の原因となるようなマイナス面について指摘されるようになった。一方、オリゴ糖とは少糖とも言い、2~6糖位の糖鎖と定義される。近年、ある種のオリゴ糖がシュークロースよりカロリーが低く、人間の健維維持に結びつくビフィズス菌増殖活性や抗う歛性等様々な生理機能をもつことが知られるようになった。

【0003】 ビフィズス菌増殖活性をもつオリゴ糖は、人間には消化されず大腸まで達し、大腸においてビフィズス菌にのみ選択的に資化されビフィズス菌叢の増大と安定化をおこすものである。ビフィズス菌は人間の腸内菌叢を構成する代表的な有用菌である。腸内でビフィズス菌叢が形成されると、これが乳酸や酢酸を生産し、腸管内のpHを低下させ、大腸菌などの有害菌の増殖が抑制され、結果として生体にとって有害な腸内腐敗産物の生産が抑制される。さらに、乳酸などの脂肪酸が腸管を刺激してぜん動運動が促進され、便秘、下痢が改善される。さらに、ビフィズス菌は人体の免疫力を高める効果や発癌物質を分解することも報告されている。また、年

をとると腸内のビフィズス菌が減少消失することも明らかにされ、老化との係わりも論じられている。

【0004】 虫歯の原因は、まず、口腔内細菌ストレプトコッカス (*Streptococcus*) の分泌するグルコシルトランスフェラーゼによって粘着性の不溶性グルカンがシュークロースから合成され、次に、この下で食物カス等の醣発酵が起り、この酸が歯のカルシウムを溶解するためであると考えられている。非う歛性糖とは、それ自身不溶性グルカンの合成原料とならない糖で、さらに抗う歛性糖は非う歛性のみならずシュークロースの虫歯発能をも抑制する作用をもつ糖質である。

【0005】 近年、特定のオリゴ糖を合成する様々な糖関連酵素が微生物よりスクリーニングされ、このような微生物酵素の利用技術や合成したオリゴ糖の高度な精製技術の進歩とあいまって、オリゴ糖を大量に低成本で合成することが可能となった。このため、オリゴ糖が医薬品分野ばかりでなく食品工業のような身近な分野でも利用できるようになった。例として、フラクトオリゴ糖、 $\beta$ -ガラクトオリゴ糖、大豆オリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、パラチノース、カップリングシュガー等が知られている。これらのオリゴ糖は、ビフィズス菌増殖活性、あるいは、非・抗う歛性が報告されているが、ビフィズス菌増殖活性と抗う歛性の両方の特性が報告されているものはイソマルトオリゴ糖以外ほとんど知られていない。

【0006】 近年、メリビオース、マンニノトリオース、ラフィノース、スタキオースなどの末端に  $\alpha$ -ガラクトシル基を有するオリゴ糖、すなわち、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖が強いビフィズス菌の増殖効果をもつことが認められ、飲食品や医薬品等、あるいは、その原料として注目を浴びている。ラフィノースの供給源としては、ピート、大豆オリゴ糖が、スタキオースの供給源としては大豆オリゴ糖が知られている。しかしながら、上記の大豆オリゴ糖は量的に少ないため大量供給が難しく、また、価格も高い。ピート中のラフィノースも、供給時期が10月~3月と限定されること、および、現在のところ価格が高いという欠点をもっている。メリビオース、マンニノトリオースは大豆オリゴ糖中に少量存在し、それぞれ、ラフィノースとスタキオースのフラクトース部分が除去された構造をもっている。人為的にはラフィノース、スタキオースの分解によって合成されているが、原料ラフィノースやスタキオースが高価なため、非常に高価である。これらの  $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖は、どれも、有害な腸内細菌に利用されにくく強いビフィズス菌増殖活性を有しているが、人体に有用と考えられるビフィズス菌の一種ビフィドバクテリウム ピフィダム (*Bifidobacterium bifidum*) には、メリビオースが若干資化されるのみであった。この優れたビフィズス菌増殖活性を有するメリビオースは、構造的にフラクトシル残基を持たないため強い耐酸性、耐熱性を有している。さらに、制

癌効果やナチュラルキラー細胞活性化作用が報告されており非常に有用なオリゴ糖であると考えられる。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】このように有用な特性を持つ $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖、特に、メリビオースは前述のごとく大量にかつ安価な供給がなされておらず、ビフィズス菌増殖活性をもつオリゴ糖としてはビフィドバクテリウム ビフィダムに優化されにくいという欠点を有していた。本発明は、メリビオースと同等の耐酸性、耐熱性を有し、溶解性とビフィドバクテリウム ビフィダムに対する資化性に関するメリビオースより優れ、抗う蝕性を合わせもつ飲食品素材を提供しようというものである。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の目的を達成するため銳意研究した結果、高濃度のガラクトース、あるいは、ガラクトースとグルコースの混合物、あるいは、乳糖加水分解物に高濃度の $\alpha$ -ガラクトシダーゼを作用させると、メリビオースと同等の耐酸性、耐熱性を有し、溶解性とビフィドバクテリウム ビフィダムに対する資化性に関するメリビオースより優れ、抗う蝕性を合わせもつ $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物が得られる事実を発見し、本発明を完成するに至った。すなわち、このような特性を有する $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有する飲食品素材を提供するもので、このような本発明の飲食品素材は、飲食品をはじめとして、飼料、医薬品、化粧品等、広範な用途に使用できる有用な素材である。

【0009】本発明の新規な飲食品素材は、ガラクトースまたはガラクトースを含む物質を原料として $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応によって合成される、以下の性質：

- 1) 腸内細菌であるビフィドバクテリウム ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum*) による資化試験の結果、終濃度 0.5% の当該オリゴ糖組成物を含むPepton-Yeast-Fildes solution (PYF) 培地のpHが 5.5以下となる資化性強度を示す。
- 2) 80% (W/W) の水溶液を25°C 24時間以上放置しても結晶の析出が見られない。
- 3) を有する $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を含有することを特徴するものである。

【0010】現在、オリゴ糖あるいは配糖体の合成法としては糖転移酵素または加水分解酵素による脱水縮合反応や糖転移反応を利用する方法が開発されている。本発明では、加水分解酵素である $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応を利用し、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を合成する。この脱水縮合反応は、加水分解反応の逆反応であるが、反応が進むにつれ、脱水縮合反応によって合成された $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖が再度 $\alpha$ -ガラクトシダーゼによって分解され糖転移反応も平行して起こる。その

ため、糖転移反応も $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物の合成に寄与している。以下に本発明について詳述する。

- 【0011】 $\alpha$ -ガラクトシダーゼの脱水縮合反応に供する原料としては、ガラクトースまたはガラクトースを含有する物質が使用できるが通常、ガラクトースまたはガラクトースとグルコースの混合物を用いる。ガラクトースとしては、市販のガラクトースはもちろん、 $\alpha$ -ガラクトシル基あるいは $\beta$ -ガラクトシル基を含む天然のオリゴ糖、配糖体あるいは多糖から酵素 ( $\beta$ -ガラクトナーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼなど) あるいは酸を使用して加水分解することにより調製したガラクトースが使用できる。ガラクトースとの結合の相手となるグルコースは、市販のグルコースはもちろん、 $\alpha$ -グルコシル基あるいは $\beta$ -グルコシル基を含む天然のオリゴ糖、配糖体あるいは多糖から酵素 (アミラーゼ、グルコアミラーゼ、セルラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼなど) あるいは酸を使用して加水分解することにより調製したグルコースが使用できる。
- 【0012】ガラクトースとグルコースの混合物としては、上記のガラクトースとグルコースを適当な比率に混合して利用できるが、安価な乳糖を酸あるいは $\beta$ -ガラクトシダーゼによって加水分解した乳糖加水分解物をそのまま利用することが望ましい。この場合、分解条件により未分解の乳糖が乳糖加水分解物中に残存する場合もあるが、そのまま利用可能である。乳糖加水分解物は $\beta$ -ガラクトシダーゼを用いた場合、 $\beta$ -ガラクトシダーゼによる転移生成物も含まれる場合もあるが、そのまま利用できる。ガラクトースとグルコースの比率は限定されずガラクトースが含まれておればよい。そこで、乳糖加水分解物に上記のガラクトースとグルコースを添加したり、イオン交換クロマトグラフィーや活性炭カラム等を用いてガラクトースとグルコースの組成比を変更して用いてもよい。
- 【0013】 $\alpha$ -ガラクトシダーゼは本来加水分解酵素であるが、原料のガラクトース濃度を高めると加水分解反応の逆反応として脱水縮合反応も触媒するようになる。従って、高濃度のガラクトース (G a 1) に $\alpha$ -ガラクトシダーゼを作用させた場合、 $\alpha$ -1, 6 結合を主体とした (G a 1)  $n$  ( $n$ は通常1~6の数を表す。) の構造式をもつオリゴ糖を生成する。この場合、反応系にグルコース (G 1 c) が存在すれば、 $\alpha$ -1, 6 結合を主体とした (G a 1)  $n$  の構造式をもつオリゴ糖以外に、ガラクトースとグルコースが $\alpha$ -1, 6 結合を主体に結合した (G a 1)  $n$ -G 1 c ( $n$ は通常1~5の数を表す。) の構造をもつオリゴ糖も合成される。この生成した化合物のガラクトースの結合位置、結合数、あるいは、これらの化合物の比率は、原料のガラクトースとグルコースの組成、用いた酵素の由来や反応形式により影響を受ける。

【0014】本発明の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を合成するには原料のガラクトースの濃度は高い程良く、通常5% (W/V) 以上の濃度を用いる。また、溶解度の点から反応濃度は高い方が望ましい。 $\alpha$ -ガラクトシダーゼの作用条件は用いる酵素によって異なるが、pH 3.0 ~ 10.0、好ましくは4.0 ~ 8.0 の範囲で、反応濃度は20 ~ 90°C、好ましくは40 ~ 70°Cの範囲である。反応時間は、酵素の使用量によって異なるが、通常1 ~ 240時間である。しかしながら、本発明は以上の条件、あるいは反応形態のみに限定されるものではない。

【0015】本発明で用いる $\alpha$ -ガラクトシダーゼは、ガラクトースあるいはガラクトースとグルコースを含む溶液に作用させた場合、脱水縮合反応によって $\alpha$ -ガラクトシル基を含むオリゴ糖を合成するものであれば良い。この酵素は、起源・種類に限定されない。例えば、ピクノボラス・シナバリヌス (*Pycnoporus cinnabarinus*)、ストレプトコッカス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、デプロコッカス・ニューモニア (*Diplococcus pneumoniae*)、モルティエラ・ビナセ (*Mortierella vinacea*)、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) H-601 株 (寄託番号 FERM P-1 1027) やキャンディダ・ギリエルモンディー (*Candida guilliermondii*) H-404 株 (寄託番号 FERM P-11026) などの微生物やビシア・サティバ (*Vicia sativa*)、緑色コーヒー豆 (*Green coffee bean*) などの植物が生産する $\alpha$ -ガラクトシダーゼが使用できる。

【0016】これらの微生物から $\alpha$ -ガラクトシダーゼを生産する方法は、通常液体培養もしくは固体培養が用いられる。液体培養の場合はその培養上澄液を、固体培養の場合はその抽出液を、そのまま酵素剤として利用できる。また、場合によっては菌体をそのまま酵素剤として利用することも可能である。また、必要に応じて既知の方法で精製した酵素も使用できる。これら酵素あるいは酵素を生産する菌体は固定化してカラムに詰めたり膜に固定化して連続式で、あるいはバッチ式で繰り返し反応に利用することも可能である。

【0017】このようにして得られた縮合反応溶液は、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物以外に未反応の原料であるガラクトース、あるいはガラクトースとグルコース、あるいは、乳糖加水分解物を含んでいるが、このまま飲食品素材として利用できる。あるいは、活性炭カラムやイオン交換カラム、再結晶、酵母による醸化等によって $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物を単離して、あるいは、純度を高めて利用することもできる。また、これら糖類に、更に他の糖類あるいはそれらの還元物、もしくはその他の天然、あるいは、合成甘味料の一種または二種以上を併用して使用することもできる。糖類としては、グルコース、ガラクトース、フラクトース、マンノース、イノシトール、シュークロース、ラクトース、マルトース、マルトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、フラクトオリゴ

糖、 $\beta$ -ガラクトオリゴ糖、ゲンチオオリゴ糖、パラチノース、カップリングシュガー、ラクチュロース、乳果オリゴ糖、シクロデキストリン等が、還元物の例としては、ソルビトール、マルチトール、ラクチトール、ズルシトール、エリスリトール等が、天然、あるいは、合成甘味料として、ステビオシド、ルブソシド、グリチルリチン、蜂蜜、アスパルテーム等が挙げられる。また、本飲食品素材には、必要に応じて、澱粉などの増量材や着色料や香料等を添加することもできる。さらに、腸内でビフィズス菌の増殖をより活性化するために、ビフィズス菌を配合することも可能である。

【0018】本発明の飲食品素材において、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物のもつビフィズス菌増殖活性、抗う蝕性の効果を発揮させるためには、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物の本発明の飲食品素材中の含有量は少なくとも5重量%以上、好ましくは10重量%以上含ませるのがよい。しかし、併用するオリゴ糖がビフィズス菌増殖活性や抗う蝕性を有する場合は、相加、あるいは相乗効果により、より少量で効果を発揮することが可能である。本飲食品素材は、使用する目的に応じて、公知の乾燥、混合、溶解、濃縮等の操作によって、液状、水鉢状、顆粒状、粉末状に加工して利用できる。

【0019】

【発明の効果】ガラクトース、あるいは、ガラクトースとグルコース、あるいは、乳糖加水分解物を原料に $\alpha$ -ガラクトシダーゼの縮合反応によって合成された、本発明の飲食品素材に含まれる $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物は、メリピオースと同等の耐酸性、耐熱性を有し、溶解性とビフィドバクテリウム・ビフィダムに対する資化性30に優れており、抗う蝕性も有している。ガラクトースとグルコースから合成される $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物はメリピオースも含むため、メリピオースにおいて報告されている制癌効果やナチュラルキラー細胞活性化作用も期待できる。そのため、本発明の飲食品素材は、強いビフィズス菌増殖活性と抗う蝕性を合わせて優れた飲食品素材として利用できる。次に本発明の詳細を実施例を挙げて説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

【0020】

【実施例】

参考例  $\alpha$ -ガラクトシダーゼの活性測定法  
10mMパラニトロフェニル- $\alpha$ -ガラクトシド 0.2mlと40mM緩衝液 (pHは酵素の至適pHに準ずる) 0.2mlに $\alpha$ -ガラクトシダーゼ溶液 0.05mlを加えて40°C 10分間反応させる。反応後、0.2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.5mlを加えて反応を止め、遊離してくるパラニトロフェノール量を分光光度計にて400nmの吸光度を計ることにより測定した。酵素活性1単位 (U) は、この条件下で1分間に 1  $\mu$  moleのパラニトロフェノールを生成する酵素量と定義した。

【0021】実施例1 ガラクトースを原料に用いた $\alpha$

**α-ガラクトオリゴ糖組成物の作成**

ガラクトース50gとキャンディダ・ギリエルモンディーH-404株の生産するα-ガラクトシダーゼ2000Uを含むpH4.5の酢酸緩衝液100ml(ガラクトース濃度50% (W/V)、酵素濃度40U/g-ガラクトース)を調製し、50℃にて60時間反応させた。反応液を活性炭カラムクロマトグラフィーにかけ、オリゴ糖類を吸着させた後、エチルアルコール0%~30%の濃度勾配により溶出させた。溶出液を濃縮乾燥してα-ガラクトオリゴ糖組成物(a)を得た。この組成物は、酸で加水分解するとガラクトースのみを生成した。このα-ガラクトオリゴ糖組成物(a)は、高速液体クロマトグラフィーによる分析結果から、ガラクトテトラオース以上のオリゴ糖2%、ガラクトトリオース16%、ガラクトビオース82%から構成されていた。このようにして得られたα-ガラクトオリゴ糖組成物(a)は、さわやかな甘味を有し、ビフィズス菌増殖活性と抗う歎性を合わせもつ飲食品素材として利用可能であった。

**【0022】実施例2 乳糖加水分解物を原料に用いたα-ガラクトオリゴ糖組成物の作成**

ラクトース2kgを市販のβ-ガラクトシダーゼ(ノボ社ラクトザイム)によって加水分解し、ガラクトースとグルコースの等量混合物を得た。このガラクトースとグルコースの等量混合物とキャンディダ・ギリエルモンディーH-404株の生産するα-ガラクトシダーゼ59000Uを含むpH4.5の酢酸緩衝液2300mlを調製し、50℃にて80時間反応させた。反応液から活性炭カラムクロマトグラフィーによりα-ガラクトオリゴ糖組成物(b)を得た。この組成物は、酸で加水分解するとガラクトースとグルコースのみを生成し、ガラクトースとグルコースの組成は約7:3であった。また、このα-ガラクトオリゴ糖組成物(b)は、高速液体クロマトグラフィーによる分析結果から、3糖以上のオリゴ糖15%、2糖85%から構成されていた。このようにして得られたα-ガラクトオリゴ糖組成物(b)は、さわやかな甘味を有し、ビフィズス菌増殖活性と抗う歎性を合わせもつ飲食品素材として利用可能であった。

**【0023】実施例3 ガラクトースとグルコースの混合物を原料に用いたα-ガラクトオリゴ糖組成物の合成**

ガラクトース1gとグルコース10gに市販のモルティエラ・ビナセ由来のα-ガラクトシダーゼ(生化学工業(株))30Uを含むpH5.5の酢酸緩衝液18mlを調製し、50℃で140時間反応させた。活性炭カラムクロマトグラフィーによりα-ガラクトオリゴ糖組成物(c)を得た。この組成物は、酸で加水分解するとガラクトースとグルコースのみを生成し、ガラクトースとグルコースの組成は約1:1であった。また、このα-ガラクトオリゴ糖組成物(c)は、高速液体クロマトグラフィー

による分析結果から、3糖以上のオリゴ糖10%、2糖90%から構成されていた。このようにして得られたα-ガラクトオリゴ糖組成物(c)は、さわやかな甘味を有し、ビフィズス菌増殖活性と抗う歎性を合わせもつ飲食品素材として利用可能であった。

**【0024】実施例4 乳糖加水分解物を原料に用いたα-ガラクトオリゴ糖組成物を含む飲食品素材の作製**

ラクトース2kgを市販のβ-ガラクトシダーゼ(ノボ社ラクトザイム)によって加水分解し、ガラクトースとグルコースの等量混合物を得た。このガラクトースとグルコースの等量混合物とキャンディダ・ギリエルモンディーH-404株の生産するα-ガラクトシダーゼ59000Uを含むpH4.5の酢酸緩衝液2300mlを調製し、50℃にて80時間反応させα-ガラクトオリゴ糖組成物(b)を得た。その後、活性炭カラム、イオン交換カラムによって脱色、精製、濃縮し溶液状の飲食品素材を得た。この飲食品素材は、さわやかな甘味を有し、ビフィズス菌増殖活性と抗う歎性をもつ飲食品素材として、各種調理、製菓、製パン等に好適であった。

**【0024】実施例5 α-ガラクトオリゴ糖組成物を含む飲食品素材の作成**

シュークロース1kgと上記実施例2のα-ガラクトオリゴ糖組成物(b)の乾燥粉末60gを混合して粉末状の飲食品素材を得た。本品は、ビフィズス菌増殖活性と抗う歎性を合わせもつ甘味料素材として、各種調理、製菓、製パン等に好適であった。

**【0025】****【試験例】****30 試験例1 In Vitro に於ける腸内細菌による変化性試験**

Peptone-Yeast-Fildes solution (PYF) 培地に各種糖質を0.5%になるように添加した滅菌培地(pH 7.2)1.5mlを調製し、あらかじめFildes solution加GAMブイヨン培地(GAMブイヨン(日本製薬製)にFildes solution 0.4%を添加)で前培養しておいた供試菌液0.03mlを接種し、37℃で4日間(96時間)嫌気培養後、pHを測定し変化性を判定した。結果を下表に示す。判定は、pHについては、-: ≥ 6.0, ±: 6.0~5.5, +: 5.5~5.0, ++: 5.0~4.5, +++: <4.5とした。表中の略号は、対照区(炭水化物無添加)、Glc: グルコース、M-P: メイオリゴP(明治製菓製)、A: α-ガラクトオリゴ糖組成物(a)、B: α-ガラクトオリゴ糖組成物(b)、Mib: メリビオースを示す。

**【0026】****【表1】**

Bacteria species	对照区	Glc	B-P	A	B	Mib
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	-	+++	-	++	++	+
<i>Bifidobacterium longum</i>	-	+++	++	+++	+++	+++
<i>Bifidobacterium breve</i>	-	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Bifidobacterium infantis</i>	-	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	-	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Bacteroides vulgaris</i>	-	++	+	+	+	+
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	++	++	+	+	+
<i>Bacteroides ovatus</i>	-	++	++	+	+	++
<i>Bacteroides distasonis</i>	-	+	+	±	+	+
<i>Bacteroides thetaictomicron</i>	-	+	++	+	+	+
<i>Bacteroides uniformis</i>	-	++	++	+	+	+
<i>Fusobacterium varium</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Mitsuokella multiacidica</i>	-	+++	±	++	+++	+++
<i>Megamonas hypermegas</i>	-	++	++	++	++	++
<i>Eubacterium limosum</i>	-	++	+	+	+	+
<i>Eubacterium aerofaciens</i>	-	++	±	-	-	-
<i>Eubacterium nitritogenes</i>	-	++	++	+	++	-
<i>Eubacterium lentum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Clostridium paraputificum</i>	-	++	-	-	±	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	+	-	-	-	-

[表2]

Bacteria species	对照区	Glc	M-P	A	B	MB
<i>Clostridium butyricum</i>	-	+++	++	++	++	+
<i>Clostridium clostridioforme</i>	-	+	-	-	+	-
<i>Clostridium innocuum</i>	-	++	+	-	-	-
<i>Clostridium remosum</i>	-	++	+	+	+	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	+++	+	+	++	-
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Peptostreptococcus productus</i>	-	++	+	++	++	++
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	-	+	-	+	+	-
<i>Lactobacillus casei</i>	-	+++	+	+	+	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	+++	++	+	+	-
<i>Lactobacillus gasseri</i>	-	+++	+	+	+	+++
<i>Lactobacillus salivarius</i>	-	+++	+	++	++	+
<i>Escherichia coli</i>	-	++	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+++	+	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+++	+	+	+	-
<i>Enterococcus faecium</i>	-	+++	+	++	++	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	++	-	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	++	++	-	-	-

【0027】上記表中の結果からわかるように、本発明で使用する $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物はpHが5.5以下となる資化性強度を示す。

【0028】試験例2 溶解性試験

メリビオース、実施例1の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(a)、実施例2の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(b)、実施例3の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(c)に各種重量濃度になるように水を添加し、沸騰水浴中で完全に溶解した。その後、25℃に2週間放置し、結晶の析出を経時的に検鏡によって観察した。メリビオースは70重量%では結晶の析出は見られなかったが、72重量%では明瞭な結晶の析出が観察された。これに対して、 $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(a)、(b)、(c)は、いずれも70重量%の場合は勿論、82重量%の濃度においても全く結晶の析出が見られなかった。

【0029】試験例3 抗う歎性試験

10mMのシュークロース、本発明の飲食品素材、0.02%のアシ化ナトリウムを含む0.02Mリン酸緩衝液(pH 6.8)に、ストレプトコッカス ソブリヌス(*Streptococcus sobrinus*) 6715の粗グルコシルトランスフェラーゼ標品を加え、37℃で18時間反応させた。反応終了後、反応液を遠心分離することによって得た沈澱を水酸化ナトリウムを加えて溶解し、不溶性グルカン量をフェノール硫酸法により測定した。結果を次表に示す。表中、相対値は、本飲食品素材を添加しなかった場合に生じる不溶性グルカン量を100としたときの相対値を示す。なお、Aは実施例1の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(a)を、Bは実施例2の $\alpha$ -ガラクトオリゴ糖組成物(b)を示す。このように本発明の飲食品素材をシュークロースに添加すると、シュークロースからの虫歎の原因となる不溶性グルカンの生成が抑制された。

【表3】

	不溶性グルカン量	
	(Mean $\pm$ SD, $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	相対値
無添加	370 $\pm$ 26	100
+ 5 mM A	268 $\pm$ 12	72
+ 5 mM B	272 $\pm$ 21	74
+ 10 mM A	226 $\pm$ 45	61
+ 10 mM B	323 $\pm$ 15	87

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>5</sup> 認別記号 庁内整理番号 F I 技術表示箇所  
 C 12 N 1/38 7236-4B  
 C 12 P 19/14 7432-4B  
 // C 07 H 3/06